



**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE**  
**CURSO DE BIOMEDICINA**

**GABRIELA VELANÍ DE SOUZA**

**LINFOMA DE BURKITT: UMA AMPLA VISÃO DIAGNÓSTICA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado em forma de artigo ao Uniceub, como pré-requisito para obtenção de grau de bacharel em Biomedicina, sob orientação da Profa. Dra. Luciana Ramalho

Brasília

2018

Dedico este trabalho primeiro lugar à Deus que iluminou o meu caminho durante esta caminhada, à minha vó paterna que foi uma fonte de inspiração, com toda sua força e coragem, ao meu marido e pai do meu filho, por me apoiar, acreditar em mim. a sua capacidade de me trazer paz e pelas alegrias, tristezas e dores compartilhadas. Ao meu filho, meus pais e irmão que com muito carinho não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

## **Agradecimento**

Agradeço à professora Luciana Ramalho pela paciência na orientação e incentivo que tornaram possível a conclusão desse TCC.

À professora e coordenadora do curso, pelo convívio, apoio, compreensão e amizade.

A todos os professores do curso, que foram tão importantes na minha vida acadêmica e no desenvolvimento desse trabalho.

Ao meu marido, pela paciência, incentivo, força e principalmente pelo carinho, hoje estamos colhendo, juntos, os frutos do nosso empenho. Essa vitória é nossa.

Ao Curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília, e às pessoas com quem convivi nesses espaços ao longo desses anos.

A todos aqueles que de alguma forma estiveram e estão próximos de mim, colaborando para a realização desse sonho.

# ASPECTOS CLÍNICO, PATOLÓGICO, CITOGENÉTICOS E MORFOLÓGICOS DO LINFOMA DE BURKITT.

Gabriela Velaní de Souza<sup>1</sup>

Dra. Luciana Ramalho<sup>2</sup>

## Resumo

O linfoma de Burkitt, é um Linfoma do tipo não Hodgkin, altamente agressiva, caracterizada por uma translocação e desregulação do gene que expressa a c-Myc. Este linfoma é classificado em três variantes, sendo uma delas associadas a coinfeção pelo vírus Epstein-Barr e ao HIV. É uma doença endêmica na África, acometendo principalmente crianças. O diagnóstico é realizado com análise morfológica das células após a extração do tecido suspeito, feito mediante uma biópsia. Exames de imunologia e biologia molecular são usados como auxílio para o diagnóstico. Seus sintomas são percebidos tardiamente com a presença de crescimento dos linfonodos, comuns no pescoço, axilas e virilhas. A base do tratamento é um conjunto de fármacos, que compõe a quimioterapia, podendo ser dividida em ciclos, e dependendo do estadiamento do paciente, utiliza-se também a radioterapia. Trata-se de um estudo de revisão narrativa com o objetivo de descrever as principais características do LB e suas formas de diagnóstico. **Palavras chaves: Translocação; C-myc; Estadiamento; Epstein-Barr; HIV; Linfonodos; Quimioterapia; Radioterapia.**

## Abstract

The Burkitt's lymphoma is a non-Hodgkin lymphoma, highly aggressive, characterized by a translocation and deregulation of the c-Myc gene. This lymphoma is classified in three variants, one being associated with Epstein-Barr virus co-infection and with HIV. It is an endemic disease in Africa, affecting mainly children. The diagnosis is made with morphological analysis of the cells after the extraction of the suspicious tissue, done through a biopsy. Immunology and molecular biology tests are used as an aid to the diagnosis. Its symptoms are perceived late with the presence of growth of the lymph nodes, common in the neck, armpits and groin. The treatment basis is a set of drugs, which makes up chemotherapy, and can be divided into cycles, and depending on the staging of the patient, radiotherapy is also used. This is a narrative review study with the purpose of describing the main

---

<sup>1</sup> Aluna de Biomedicina.

<sup>2</sup> Professora Orientadora

characteristics of LB and its diagnostic forms. **Keywords: Translocation, C-myc; Staging; Epstein-Barr; HIV; Lymph nodes; Chemotherapy; Radiation.**

## 1 – Introdução

O sistema linfático é constituído pelo tecido linfoide, composto por capilares, vasos e ductos, por linfonodos e por órgãos linfoides, sendo a medula óssea, o timo, os gânglios e o baço os principais, responsáveis pela ativação e maturação de linfócitos B e T. A principal função desse sistema é proteger o organismo contra macromoléculas estranhas, vírus, bactéria e outros patógenos, além de eliminar células alteradas e células do sangue envelhecidas ou danificadas (LOWE, 2015).

Os linfomas são neoplasias caracterizadas pelo crescimento desordenado de células do sistema linfático, geralmente originando-se nos linfócitos, afetando tecidos linfoides através do desenvolvimento de massas tumorais. Em situações normais, o aumento dos gânglios linfáticos resulta do aumento e proliferação de células retículos-endoteliais, assim como da multiplicação de linfócitos, porém nos linfomas ocorre a destruição da estrutura ganglionar por células malignas que possuem um crescimento de forma exacerbada e desordenada (BRASIL, 2013).

Os dois principais grupos de linfoma, os linfomas de Hodgkin – LH e os linfomas não-Hodgkin – LNH, diferem entre si apenas em relação às características das células malignas, que são observadas somente após biópsia (Instituto Oncoguia, 2015). Essas doenças são classificadas com base na morfologia, na imunofenotipagem, na citogenética, patologia molecular, clínica, bem como na origem celular, desde 2001 pela Organização Mundial de Saúde – OMS, em conjunto com a Revista de linfoma Europeu-Americano – REAL (AISENBERG, 2000).

Um dos tipos de LNH é o linfoma de Burkitt – LB, cuja origem remota a uma observação do cirurgião inglês chamado de Denis Burkitt. Em 1957, Denis B. trabalhava em um hospital de Mulango em Kampala, capital de Uganda onde percebeu, um tumor que estava acometendo os ossos da face e que estava frequentemente associado a tumoração em outros sítios. Em 1958, com a colaboração do patologista O’Conor, diagnosticou o tumor como um linfoma incomum que, posteriormente, denominou-se de LB (EPSTEIN, 2005).

Em 1961, ao compartilhar amostras do LB com o patologista britânico, Michael Epstein que juntamente com Achong Barr, também patologista, em 1964, identificou, através de microscopia eletrônica, partículas virais a partir de culturas de células linfoblastóides derivadas do LB de crianças africanas. Essas partículas apresentavam características morfológicas semelhantes ao grupo do vírus Herpes, portanto esse vírus foi denominado como Vírus Epstein-Barr. Essa foi a primeira descrição de um vírus envolvido na patologia de um tumor em humano (FERRY, 2006).

Os LNH são considerados a quarta neoplasia mais incidente nos Estados Unidos sendo responsável por 5% de todas as malignidades, segundo o estudo da vigilância epidemiológica americana (INCA, 2013).

O LB possui tempo de duplicação de 24 a 48 horas, apresentando condições malignas heterogêneas, como crescimento mitótico desordenado, ocasionado pela expressão do proto-oncogene que expressa a c-Myc, antecedido por alterações citogenéticas, e surgindo de células muito diversificadas do sistema imunológico, os linfócitos B. Sua proliferação ocorre de células monomórficas, de tamanhos variados, com núcleos redondos e vários nucléolos basofílicos (SIMETTE et al, 2007).

Em 80% dos casos de LB a principal causa é a translocação envolvendo os cromossomos 8 e 14, impactando no proto-oncogene codificante da c-Myc. Cerca de 15% dos casos O impacto envolve o gene de cadeia leve KAPPA, e em 5% dos casos, o gene também de cadeia leve LAMBDA (QUEIROGA, 2008).

Além da associação com o vírus EBV, o LB possui cerca de um terço dos casos de LNH diagnosticados em pacientes com vírus da imunodeficiência – HIV e comumente representa a manifestação clínica inicial da síndrome da imunodeficiência adquirida – SIDA (NAVARRO; KAPLAN, 2006; FERRY, 2006).

O diagnóstico de LB é confirmado somente após análise morfológica de células extraídas por meio da biopsia. O estudo de estadiamento é concluído após exames de tomografia computadorizada e Raio X, do tórax, abdômen e pelve (MOLYNEUX, 2012).

Neste contexto, o objetivo desse trabalho foi descrever as principais características do LB e suas formas de diagnóstico.

## **2 – Metodologia**

Trata-se de um estudo de revisão narrativa onde assim como outras categorias de artigos científicos são uma forma de pesquisa que utiliza de fontes bibliográficas ou eletrônicas para obtenção de resultado de pesquisa de outros autores, com o objetivo de fundamentar teoricamente um determinado objetivo (ROTHER, 2007). Visando relatar aspectos diagnósticos do LB, utilizados que auxiliam no tratamento e melhor prognóstico da doença. Para elaboração deste foram selecionados artigos e dados publicados nos anos de 2000, 2018, utilizando o BVS (Biblioteca Virtual de Saúde), PubMed (Public Medline), Scielo (Scientific Eletronic Library Online); Ministério da Saúde; Instituto Nacional do Câncer (INCA); Instituto Oncoguia. Foi realizada a pesquisa com as palavras chave: Linfoma não

Hodgkin. LB. Vírus Epstein-Barr. Linfoma. HIV. Epidemiologia. Diagnóstico. Tratamento. Citogenética. Imunofenótipo.

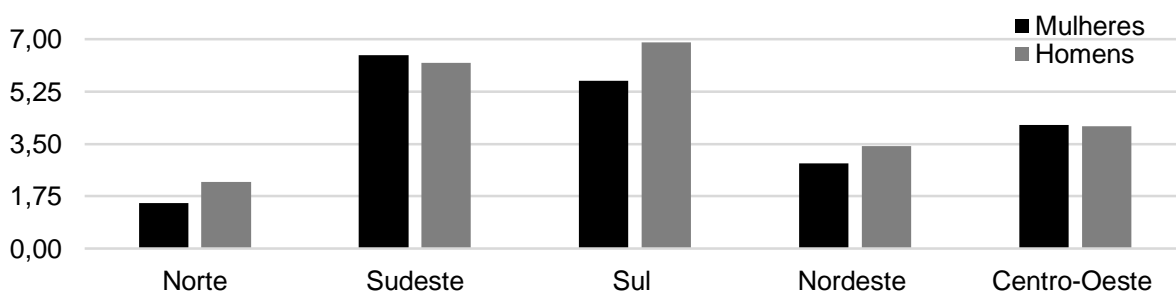
Após essa seleção, as fontes de informações foram classificadas pela presença de resumos em português e inglês, pela abrangência e profundidade na abordagem do LB, principalmente, a sintomatologia, seus diagnósticos citogenéticos, imunofenótipos e por imagem, sua morfologia, a associação com o Vírus Epstein-Barr e o HIV. Foram excluídos os artigos que não atenderam as especificações de inclusão ou não abordaram o LB na profundidade desejada.

### 3 – Desenvolvimento

#### 3.1 Epidemiologia

O LB, anteriormente denominado LNH de alto grau de pequenas células não-clivadas, é uma neoplasia de células B maduras altamente agressiva, sendo endêmica nas regiões centrais da África, predominantemente em pacientes com idade média de 4 a 7 anos. No resto do mundo a idade média dos pacientes que possuem LB é de 55 anos (KANBAR, 2016). No Brasil, os LNH em homens é o 9º mais frequente nas regiões Norte (2,23/100 mil) e Sudeste (6,21/ 100 mil). Nas regiões Sul (6,90/100 mil) e Nordeste (3,43/100 mil), é o 11º e, na região Centro-Oeste (4,08/100 mil), o 12º. Para as mulheres, é o 8º mais frequente na região Sudeste (6,47/100 mil) e o 10º na região Centro-Oeste (4,14/100 mil). Na região Nordeste (2,84/100 mil), ocupa a 11ª posição, enquanto nas regiões Sul (5,61/100 mil) e Norte (1,52 /100 mil), é o 12º mais frequente, demonstrados no figura 1. Este resultado pode ser explicado pela quantidade de habitantes de cada região, além de mais acesso a saúde e consequentemente maiores notificações de casos nas regiões Sul e Sudeste comparadas com a região Norte (INCA, 2016).

**Figura 1 – Distribuição de casos de linfoma não Hodgkin em homens e mulheres por região do Brasil no ano de 2014, por 100 mil habitantes.**





Fonte: Adaptado de INCA (2014)

Segundo dados do Instituto Nacional de Câncer (Inca), a taxa de mortalidade por LNH cresceu 17% entre 2004 e 2014. Entre os homens, o índice passou de 2,06 mortes por 100 mil habitantes do sexo masculino para 2,42 neste período. Já entre as mulheres, a mesma taxa cresceu de 1,59 para 1,87. Em dados absolutos, o número de óbitos pela doença cresceu de 3.255 para 4.154 nos dez anos analisados (INCA, 2013).

O LB é provavelmente a neoplasia maligna com um crescimento mais rápido que afeta os seres humanos. Pode duplicar de tamanho em até 24 horas, com suas células em fase de mitose em qualquer ponto. Representa cerca de 40% de todos os LNH que ocorrem durante a infância (MANNE, 2014).

### **3.2 Estágios da doença**

Os LNH são classificados em estadiamentos de acordo com o local onde se encontram as células malignas do sistema linfático e do número de regiões afetadas. No estadiamento I as células de linfoma encontram-se apenas em grupos de gânglios linfáticos (ex.: pescoço ou axila). Já no estadiamento II, as células de linfoma encontram-se em pelo menos, dois grupos de gânglios linfáticos. No estadiamento III, o linfoma encontra-se em grupos de gânglios linfáticos, acima e abaixo do diafragma, também podendo estar presente em um órgão ou tecido próximo a esses gânglios linfáticos. O estadiamento IV caracteriza-se pela disseminação total do linfoma em determinado órgão ou tecido, tendo o fígado, sangue ou medula óssea como principais casos (ROCHER, 2008). A figura 2 mostra a diferença de porcentagem de casos de estadiamento entre os LH e LNH, demonstrando que os LNH possuem a característica de serem mais agressivos por possuírem cerca de 80% de casos pertencerem ao estadiamento III/IV. A quantidade de casos com estadiamento avançado, ocorre devido à pela manifestação dos sintomas que, aparecem de forma tardia trazendo como consequência menor eficiência da resposta ao tratamento.

**Figura 2 – Porcentagem dos tipos de estadiamentos nos casos de linfomas Hodgkin e não Hodgkin em jovens no ano de 2007.**



Fonte: Bleyer (2007)

### 3.3 Causas do linfoma de Burkitt

O LB já foi descrito como um tipo de sarcoma (câncer das partes moles), porém observou-se que se tratava de um tumor primário do sistema linfático (linfoma). Além disso, a leucemia linfóide aguda L3 (leucemia de Burkitt) e o LB eram tratadas como doenças diferentes. No entanto, com o auxílio de novas técnicas de análise cromossômica e genética, foi possível determinar que ambas possuíam as mesmas características e, por fim, representavam a mesma doença (JAFPE, 2002).

As características dos linfócitos B são definidas inicialmente pela etapa de maturação, denominada antígeno-independente, formadas pelos rearranjos genéticos ao acaso, sob a influência do microambiente da medula óssea. Esta etapa tem início no cromossomo 14, que guarda o código das cadeias pesadas, composto por três grupos de genes – V, D e J. Durante o processo de diferenciação ocorre uma série de translocações, aproximando os genes V, D e J ao acaso em cada célula B, resultando na produção de linfócitos de imunoglobulina única e idiótipo próprio (LOWE, 2015).

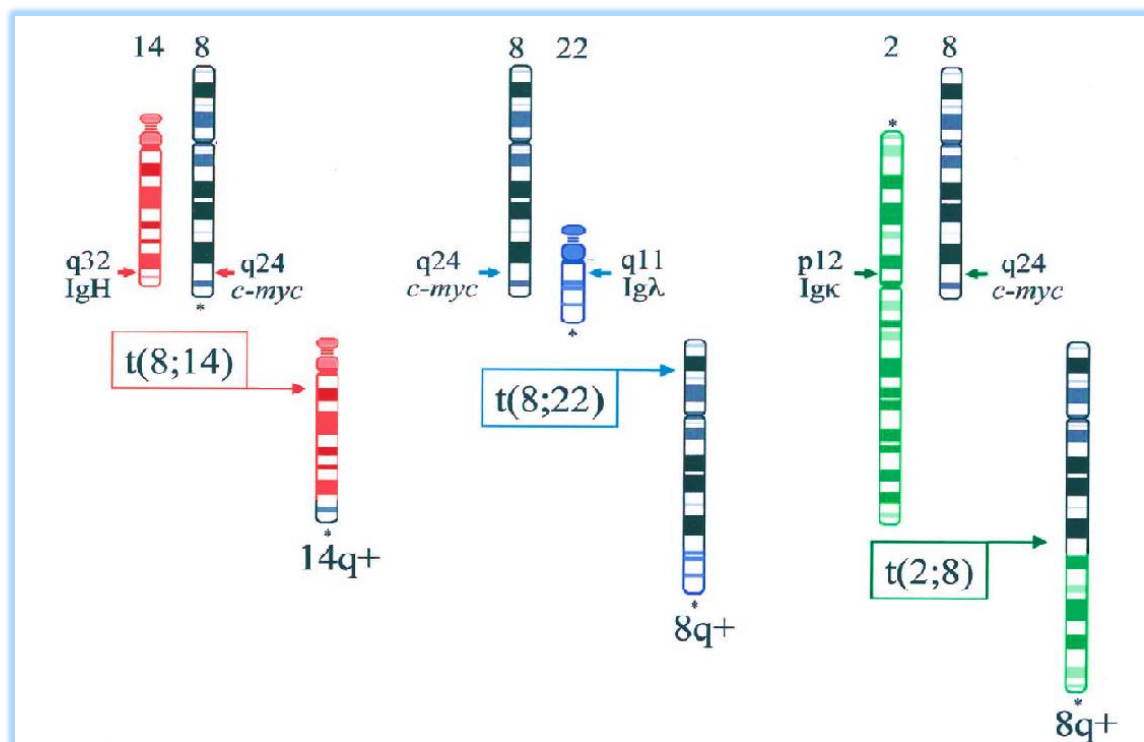
A causa principal do LB é a translocação entre o cromossomo 8 e 14 dos genes de cadeias pesadas localizados na banda 14q32. Os de cadeia leve residem em 2p11, sendo esses locais também passíveis de uma translocação cromossômica causadora do LB. No cromossomo 8 o ponto de quebra é sempre na banda 8q24, onde se localiza o proto-oncogene humano que expressa a c-Myc, cujos produtos (proteína 64-p64 e proteína 67-p67), consistem em fosfoproteínas nucleares altamente conservadas (NOGAI, 2010).

A figura 3 demonstra a representação das três translocações *c-Myc-Ig* no LB. Na translocação clássica, t(8;14), o gene da c-Myc é colocado em aposição ao *locus* da cadeia pesada da imunoglobulina (IgH) no cromossomo derivativo 14 (14q+). O ponto no qual o

cromossomo 14 quebra está situado entre os genes que codificam as regiões variável e constante da cadeia pesada da molécula de anticorpo. Nas translocações variantes (t(2;8) e t(8;22)) os *locus* de cadeia leve são colocados nas proximidades do gene da c-Myc no cromossomo derivativo 8 (8q+). A orientação do segmento que sofreu translocação em cada cromossomo derivativo está assinalada com um asterisco (OVALLE, 2008).

A expressão do c-Myc, bem como outros membros da família Myc é indispensável durante o desenvolvimento embrionário normal, sua atividade em células normais é regulada por sinais externos, como fatores de crescimento, bem como sinais internos, como a maquinaria de ativação do ciclo celular. A ativação inadequada do gene da c-Myc ocorre em todos os casos de linfoma de Burkitt, como pode ser observado na tabela 1 (BEIER, 2000).

**Figura 3 – Translocações causadoras de LB – t(8;14), t(8;22), e t(2;8).**



Fonte: Hecht (2000).

**Tabela 1 – Porcentagem de expressão do oncogene da proteína c-Myc em diferentes neoplasias humanas.**

Neoplasia	Expressão da c-Myc
Astrocitoma	5-78%
Carcinoma de Bexiga	30-50%

<b>Carcinoma do colo uterino</b>	32-85%
<b>Adenocarcinoma do cólon</b>	23-100%
<b>Adenocarcinoma gástrico</b>	19-47%
<b>Hepatocarcinoma</b>	33-100%
<b>Carcinoma mamário</b>	6-45%
<b>Carcinoma ovariano</b>	25-48%
<b>Carcinoma da Próstata</b>	29-58%
<b>Carcinoma pulmonar</b>	28-62%
<b>Melanoma</b>	22-96%
<b>Linfoma de Burkitt</b>	100%

Fonte: Adaptado MAHDY (2001).

A proteína c-Myc atua inativando os supressores tumorais, embora algumas vias ainda não tenham sido totalmente elucidadas. A inibição do proteína-p15 promove a liberação do complexo ciclina E/CDK4, que atua na captura do proteína-p27, que por sua vez torna o complexo ciclina E/CDK2, promovendo a ativação G1-S do ciclo celular. A disponibilidade dos complexos ciclinas/CDK promove a fosforilação das proteínas da família Rb, desencadeando a liberação E2F, que ativa a transcrição de mais ciclinas e de outros fatores transcricionais, dando início à ciclagem celular, a representação simplificada e parcial da atuação do gene que codifica a c-Myc nas vias moleculares reguladoras do ciclo celular pode ser observada na figura 4, ressaltando que os sinais de interrogação (“?”), identificam a participação de mediadores ainda desconhecidos (LUTZ, 2002).

A superexpressão da c-Myc, mesmo que transitoria, atua na instabilidade cromossômica, trazendo como consequência a desregulação de ciclinas e proteínas envolvidas na proliferação celular contribuindo para a formação do LB (LEVENS, 2002).

### ***3.3.1 Variantes do Linfoma de Burkitt***

Em 2001, a Organização Mundial de Saúde (OMS) classificou a leucemia linfóide aguda L3 e o LB, como sendo uma única neoplasia de células B maduras, subtipo Linfoma/Leucemia de Burkitt com três variantes clínicas: (i) endêmica, pois é frequente em crianças da África equatorial possuindo alta correlação (98% dos casos) com a infecção pelo Vírus Epstein-Barr – EBV; (ii) esporádica, pois acomete crianças e adultos de outras áreas geográficas e em apenas 5% dos casos associa-se com infecção EBV; e, por último, (iii) a



pela translocação do gene c-myc para regiões de troca de cadeia pesada Ig. O HIV por si só não é considerado um vírus oncogênico, já que não infecta as células da maioria dos LNH-HIV. No entanto, a imunossupressão decorrente da infecção pelo HIV favorece a infecção por outros vírus sabidamente oncogênico, como o EBV (MATTHEWS, 2000).

### 3.4 Sintomas relacionados ao linfoma de Burkitt

Os sintomas do LB são percebidos somente quando a doença se encontra em estágio avançado e pode variar dependendo da localização do tumor, geralmente o sintoma predominante é o aumento dos linfonodos do pescoço, axilas e/ou virilhas, como pode ser observado na figura 5. Pode ocasionar suor noturno excessivo seguido ou não de febre, coceira na pele e emagrecimento sem causa aparente (SANTOS, 2015)

Pacientes com LB apresentam múltiplas massas tumorais de rápido crescimento com tempo de duplicação celular curto, cerca de 24 a 48 horas, em que 95% das células encontram-se em mitose. A presença de um tumor mandibular é o sintoma mais clássico da doença, sendo frequente apresentações na face e no abdômen com massas denominadas de “bulky” (massas com mais de 10 cm) (AFANAS et.al 2011).

**Figura 5 – Aspecto clínico extraoral.**



Fonte: Santos (2015).

As crianças com variante endêmica em 50% a 60% dos casos apresentam tumor facial, sendo mais comum na mandíbula ou órbita, pouco frequente a presença de massas abdominais. Já em crianças com variante esporádica apenas 15 a 30% dos casos o tumor apresenta primeiramente na face, sendo a apresentação abdominal mais frequente. Em doentes com LB associado a imunodeficiência há normalmente o envolvimento de gânglios linfáticos, sistema nervoso central e da medula óssea sendo, portanto, mais grave (BIKO, 2009).

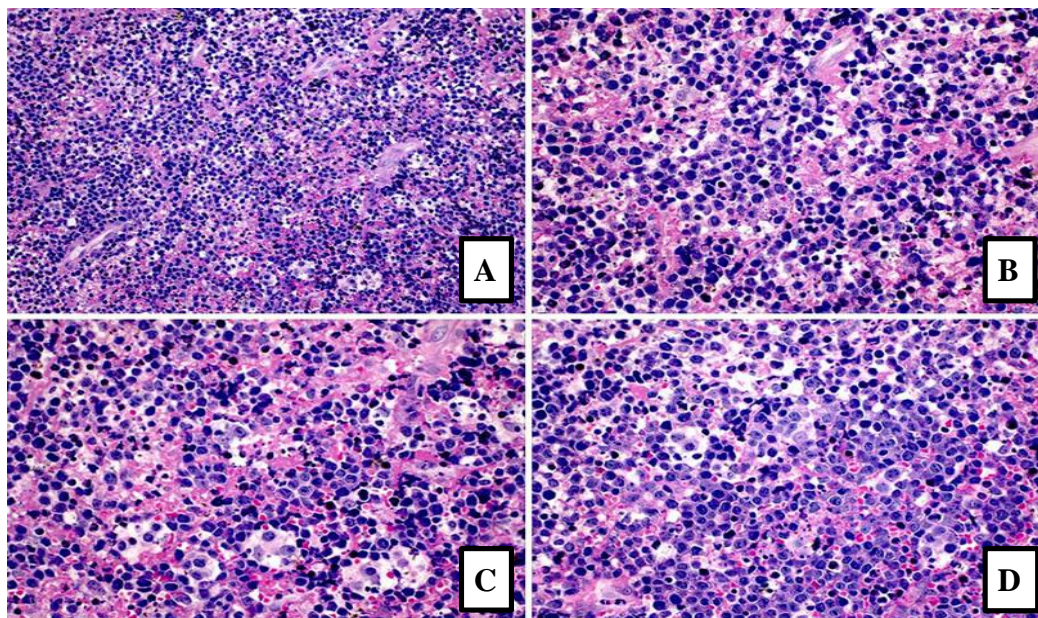
### 3.5 Diagnóstico do linfoma de Burkitt.

#### 3.5.1 Histopatológico

O diagnóstico de LB é confirmado após a realização de análise histopatológica e análise imunocitoquímica, recomenda-se uma biópsia excisional de tecido suspeito que pode ser uma neoplasia, um gânglio linfático superficial ou líquido de uma efusão pleural. Um outro tipo de biópsia chamada de biópsia de aspiração com agulha fina (BAAF), apesar de ser mais rápida, segura, barata e de fácil execução, fornece pouco material e normalmente é seguida por uma biópsia excisional para completar o diagnóstico. Nos casos de massas abdominais pode ser necessário fazer uma laparoscopia exploratória para recolher uma amostra (MOLYNEUX et.al 2012)

No exame anatomopatológico a proliferação de células B de tamanho médio, núcleo redondo e múltiplos nucléolos evidentes, citoplasma basófilo e escasso, permeado por macrófagos que se encontram em processo de fagocitose, caracterizando o padrão clássico de “céu estrelado” do LB, como pode ser observado na figura 6 (QUEIROGA, 2008).

**Figura 6 – Aspecto histopatológico do Linfoma de Burkitt.**



Legenda: A) Característica histopatológica envolvendo o LB extraído da mandíbula (hematoxilina e eosina). B) Proliferação difusa de células tumorais de médio porte e não



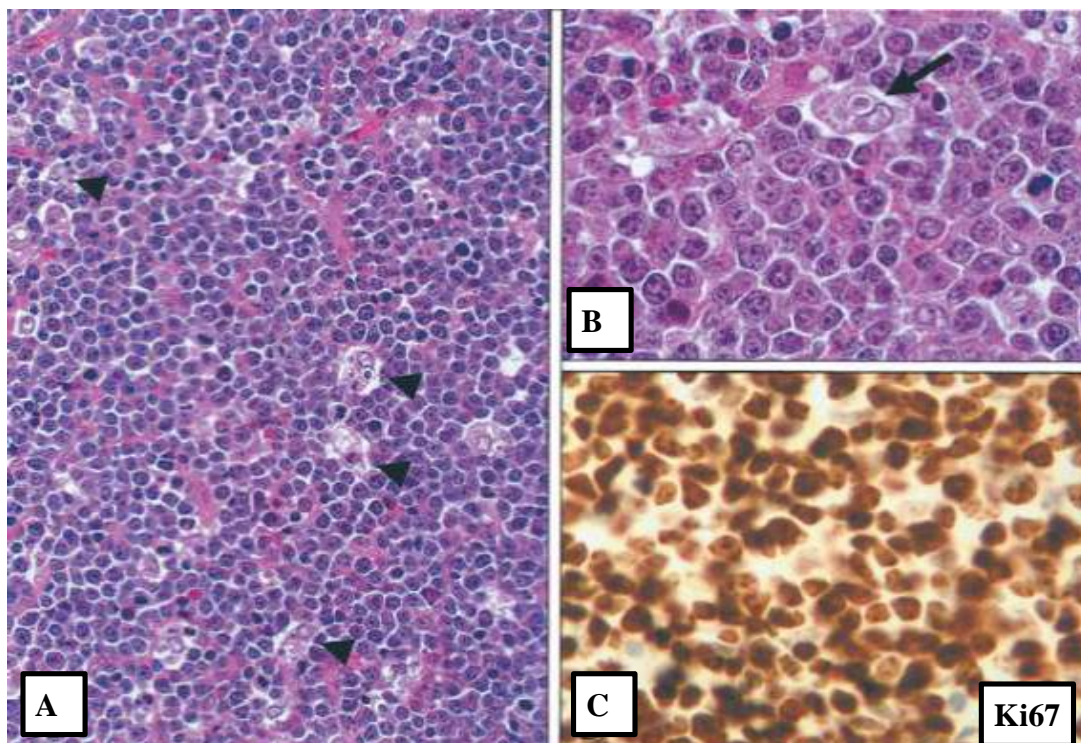
clivadas (200x). C) fase mitótica (400x). D) Quantidades variáveis de macrófagos que dão o padrão típico de “céu estrelado” visto na maioria dos casos (400x).

Fonte: Rabelo-Pontes (2014).

Este padrão de “céu estrelado” não é específico do LB e pode ser observado em outros linfomas com crescimento rápido, como por exemplo linfoma B Linfoblástico – LBL ou Linfoma Plasmoblástico – LPb (PERKINS, 2008).

Os macrófagos são responsáveis pela fagocitose de corpos apoptóticos derivados do elevado turnover (renovação da proteína, desde a síntese até a degradação) celular característico do LB, apresentando Ki67  $\geq 95\%$ , como evidenciado na figura 7. O Ki67 é uma proteína que está presente em todas as fases do ciclo celular, exceto na fase G0 (G-zero), permitindo a sua utilização como marcador de proliferação celular. A alta taxa de Ki67, não é exclusiva do LB, porém poucos linfomas apresentam essa taxa tão elevado, sendo por exemplo o Linfoma Plasmoblástico com Ki67  $\geq 90\%$  (AGOSTINHO, 2010).

**Figura 7 – Histologia do Linfoma de Burkitt.**



Legenda: A) Padrão céu estrelado, onde as setas assinalam os macrófagos (x200); B) A mesma imagem em maior ampliação (x400); C) Células de LB marcadas para Ki67(x400).

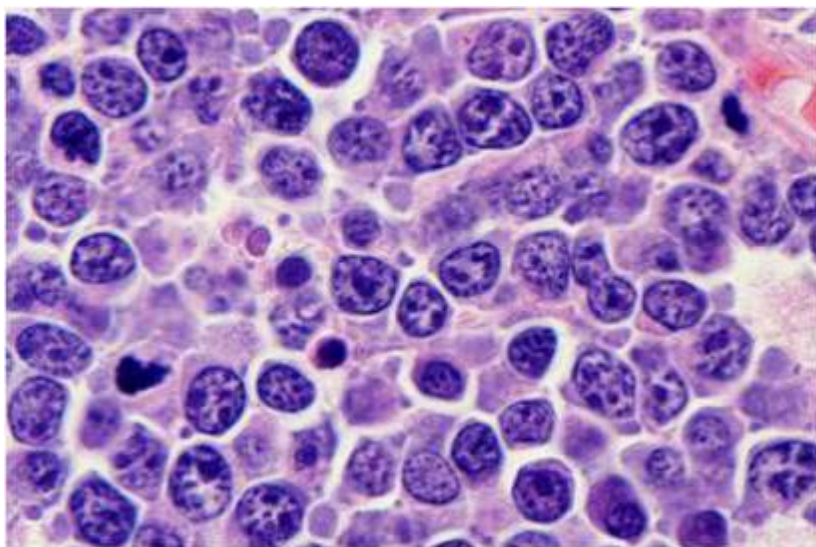
Fonte: Hecht (2000).



O escasso tecido de suporte fibrovascular e a presença de áreas de necrose ocorre porque a tecidos de suporte e de vasos sanguíneos não conseguem acompanhar o elevado índice de proliferação celular, ocasionando áreas de degeneração e necrose, o que poderá dificultar o diagnóstico se a biopsia for realizada a partir de uma dessas áreas de necrose (ROBERTSON, 2013).

O LB pode apresentar dois tipos de variantes morfológicas: Burkitt-*like* ou Burkitt atípico e LB com diferenciação plasmocitoide. A primeira apresenta células neoplásicas com maior pleomorfismo nuclear e os nucléolos são mais predominantes e em menor número, sendo mais frequente em adultos. A segunda possui células com citoplasma amplo e basófilico, núcleo excêntrico com um só núcleo central. Pode ser observado em crianças e em indivíduos imunodeprimidos, apresentando células com aparência plasmócitoide, que são subtipos de células dendríticas formadas na medula óssea, que estão associadas na defesa contra vírus e na estimulação da apoptose, como observado na figura 8 (ANDRADE, 2009).

**Figura 8 – Linfoma de Burkitt em um doente HIV+, células com aparência plasmócitoide.**



Fonte: Said (2013).

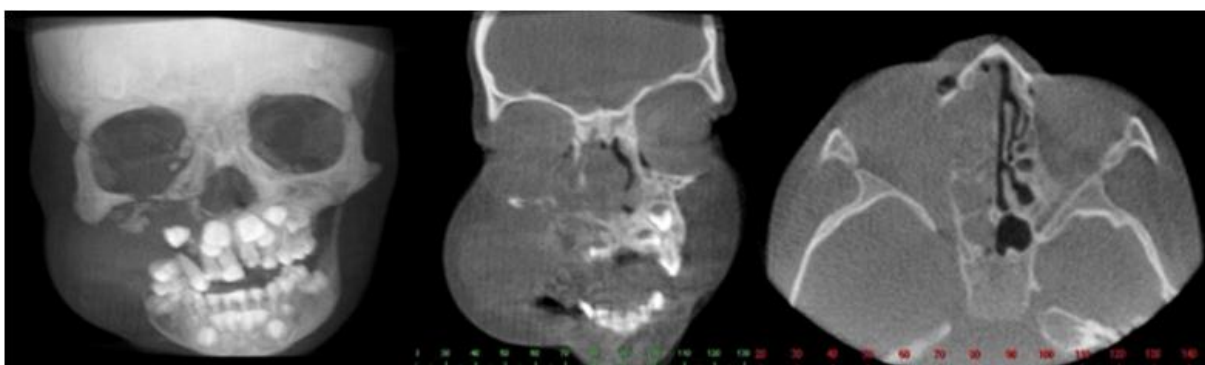
### ***3.5.2 Exames de imagem-Raio X, Tomografia Computadorizada, Ressonância Magnética e Cintilografia***

Os exames de imagem são utilizados para determinar a localização dos sítios acometidos pela doença, a radiografia do tórax pesquisa adenomegalias no mediastino e de efusão pleural. Tomografia computadorizada de crânio, tórax, abdômen e pelve são utilizados para avaliar a extensão da doença. A ressonância magnética é feita quando se tem suspeita de

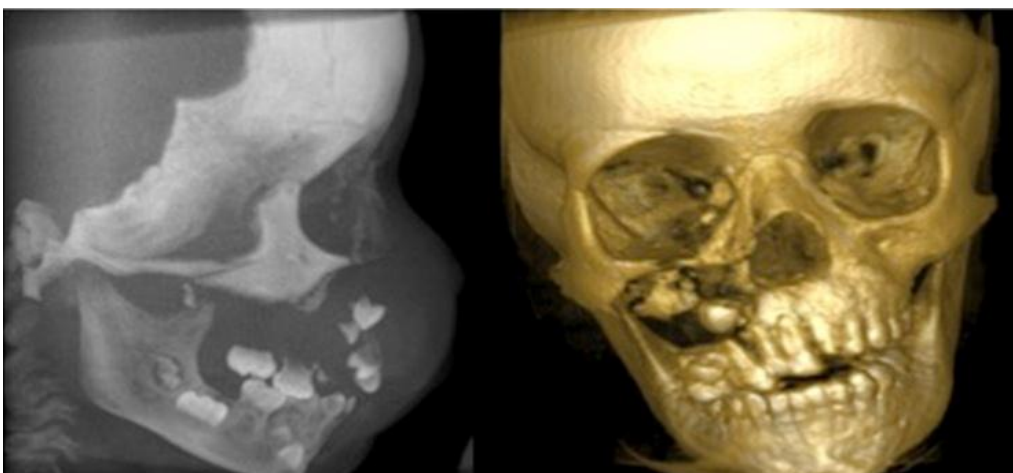
envolvimento do sistema nervoso central, juntamente com a punção lombar do líquido cefalorraquidiano para pesquisa de células malignas (KANBAR, 2014).

Em um exame de tomografia computadorizada como pode ser visualizado nas figuras 9 e 10, verifica-se a presença de lesão hipodensa de forma irregular e limites imprecisos a qual invadia o seio maxilar direito, as células etmoidais adjacentes, como também a região de espaço paratídeo (onde localiza-se a glândula parótida) , erodia o assoalho e a parede medial da cavidade orbitária direita. A presente lesão estendia-se até a região da asa maior do osso esfenóide (osso localizado na parte inferior dos seios nasais, estendendo até as bochechas) (SANTOS, 2015).

**Figura 9- Imagens de um exame de tomografia, vista frontal, corte coronal e corte axial, da esquerda para direita.**



**Figura 10- Imagem de um exame de tomografia, aspecto sagital à esquerda, reconstrução 3D à direita.**



Fonte: Santos (2015).

### 3.5.3 Imunofenótipo e citometria de fluxo

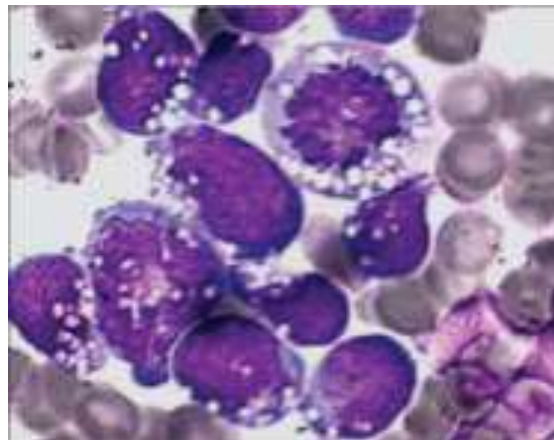
No estágio de maturação do linfócito B são encontradas a proteína CD19, específica da linhagem B, sendo retida pelo resto da diferenciação das células B, e o C10, presente nos passos seguintes de rearranjo das cadeias leves, desaparecendo nas etapas mais maduras da diferenciação (KLEIN, 2008).

As células neoplásicas derivam de Linfócitos B maduros com origem nos centros germinativos, expressam a imunoglobulina de superfície (IgM), são positivas para C19, CD20, CD22, CD79a, oncoproteína Bcl-6 (previne a indução da apoptose), CD10, Tcl-1 e CD38, e negativas para CD23, ciclina D1, TdT (terminal deoxyribonucleotide transferase), Mum-1 (oncogene de mieloma múltiplo 1, CD44, CD138 e Bcl-2 (proteínas que estão envolvidas na inibição de apoptose) (BLUM, 2004).

O CD19 é uma glicoproteína presente na superfície dos linfócitos B crucial no desenvolvimento, ativação e diferenciação de linfócitos B, é um dos marcadores mais precoces da linhagem B, sendo expresso em todas as fases da maturação de células B. O CD20 é uma fosfoproteína que age como um receptor durante a ativação de células B, é importante para o diagnóstico diferencial entre LB e o Linfoma Plasmoblástico. O CD22 é uma glicoproteína que sua expressão surge precocemente na diferenciação dos linfócitos B. O Cd79a surge na célula pré-B e persiste até a diferenciação em plasmócito, é expresso na maioria das leucemias agudas e linfomas de células B, não sendo expresso em células T (LEICA, 2014).

As células do LB apresentam vários vacúolos citoplasmáticos de conteúdo lipídico. Os mesmos não podem ser observados nas lâminas histológicas devido o processo de fixação e inclusão, porém com o auxílio de análise citológica por aspiração de agulha fina é possível visualizar os vacúolos citoplasmático e seu conteúdo lipídico, como pode ser observado na figura 11. O gene *ADPF* codifica a proteína adipofilina que está envolvida no transporte de ácidos graxos e na preservação do conteúdo de triacilgliceróis, no LB a expressão dessa proteína encontra-se aumentada, e com auxílio de um anticorpo monoclonal dirigido contra a adipofilina é possível localizar esta proteína nos vacúolos citoplasmático do LB em 96% dos casos (AMBROSIO, 2012).

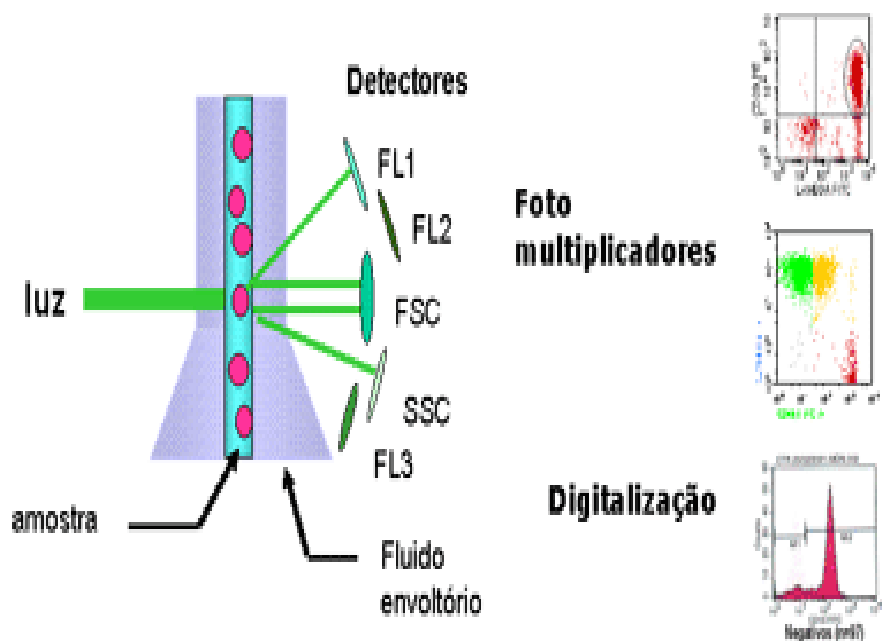
**Figura 11 – Aspirado de medula óssea em um doente com LB, células com citoplasma preenchido por vacúolo lipídico.**



Fonte: Janbabai et.al (2012).

A citometria de fluxo permite identificar o imunofenótipo e a análise histológica identifica o padrão morfológico, além de fornecer resultados rápidos utilizando pequena quantidade de amostra, o princípio do exame pode ser exemplificado na figura 12 (STEVERTSON2001).

**Figura 12- Princípio do exame de citometria de fluxo, com os histogramas formados na etapa de digitalização.**



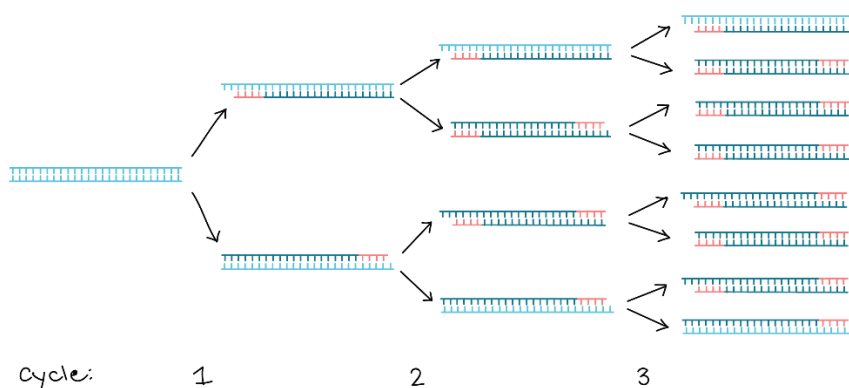
Fonte: Martins (2008).

### 3.5.4- Exames da Biologia Molecular

Para detecção das translocações do gene codificante da c-Myc o exame recomendável é o FISH (Hibridização fluorescente in situ) ou PCR (Reação em cadeia da polimerase) (ALAK e.al 2009).

O exame de PCR é uma técnica que promove, por meio de etapas de variação de temperatura, a duplicação de cadeias de DNA in vitro, como pode ser observado na figura 13. Para a reação de amplificação de DNA por PCR faz-se necessário o emprego de quatro nucleotídeos (*dNTP's*) do DNA, sequências iniciadoras chamadas de primers e uma DNA polimerase termoestável. O princípio da PCR envolve três etapas básicas (Desnaturação da fita molde de DNA; pareamento de dois iniciadores sintéticos e amplificação por meio da enzima Taq DNA polimerase), assim é possível a obtenção de muitas cópias de uma sequência específica de ácido nucléicos, a partir de uma fita molde (COSTA, 2009).

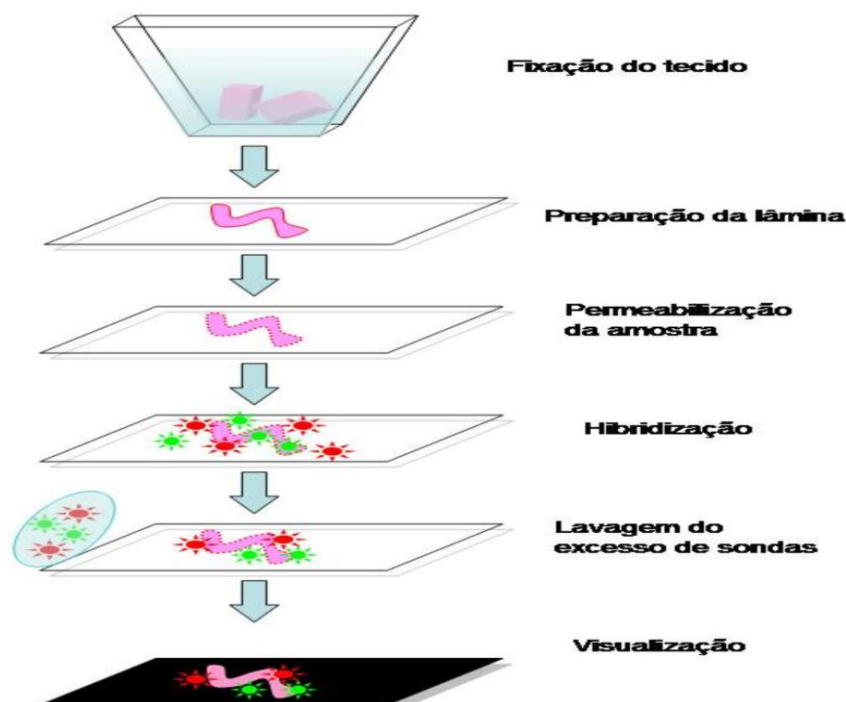
**Figura 13- Técnica de PCR, várias cópias do DNA molde, adquiridas por diversos ciclos com temperaturas específicas para desnaturação da proteína.**



Fonte: Reece (2011).

FISH é um método histoquímico que permite a visualização, identificação, enumeração e localização simultânea de micro-organismos in situ, ou seja, sem a necessidade de cultivos celulares. É um método que consiste na visualização direta em microscópios ópticos epifluorescentes em cortes histológicos, também permite que sejam examinadas o interior das células de sequências de ácidos nucleicos sem alterar sua morfologia ou integridade de seus compartimentos, seu princípio pode ser observado na figura 14 (MOTER, 2000).

**Figura 14- Princípio do exame de Hibridização fluorescente in situ- FISH.**



Fonte: Guedes (2012).

### **3..5.5 Outros exames**

O hemograma completo com VHS (Velocidade de Hemossedimentação) é utilizado para descartar a existência de pancitopenia devido ao envolvimento da medula óssea, estudos de coagulação com exames de tempo de protrombina, tempo parcial tromboplastina ativada, fibrinogênio, D-dímeros avalia a existência de coagulação intravascular disseminada. Níveis de bilirrubina, AST, ALT, Gama GT, fosfatase alcalina, avaliam o envolvimento hepático e sua função; ureia, creatinina e ionograma (sódio, potássio, cloro, cálcio, fosfato e magnésio), avalia o envolvimento do rim. Com os exames de ácido úrico e LDH (lactado desidrogenase) é possível avaliar o “turn-over” celular. O Beta 2 microglobulina avalia a extensão da doença e pode ser usado como marcador de recidivas (SAN MIGUEL, 2009).

### **3.6 Tratamentos**

O tratamento do LB, na maioria dos casos, ocorre com a administração de quatro medicamentos, conhecidos como CHOP-R (ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina e prednisona, mais um anticorpo monoclonal rituximabe). Este coquetel de medicamentos

geralmente é administrado em ciclos com intervalos de 3 semanas. Para o estadiamento I e II, o esquema CHOP-R pode ser administrado durante 3 a 6 ciclos, seguidos por radioterapia nas áreas dos nódulos linfáticos acometidos pela doença. Os estágios III e IV, são administrados 6 ciclos de CHOP-R, após o término desses ciclos são realizados exames de imagem, como PET-scan, para verificar a resposta do tratamento (ACS, 2018).

O medicamento ciclofosfamida é um alquilante, composto capaz de substituir em uma molécula um átomo de hidrogênio por um radical alquil, se ligando ao DNA de modo a impedir a separação dos dois filamentos na dupla hélice espiralar, fenômeno este indispensável para a replicação. O fármaco doxorrubicina está classificado como uma antraciclina, sua estrutura formada por um anel tetracíclico ligado a um açúcar (Ribose) impede o ligamento ao DNA, intercalando entre bases específicas, impedindo a síntese de DNA, RNA ou de ambos, provocando a cisão das cadeias de DNA interferindo nos processos de replicação e transcrição (RAJ et.al, 2014).

A vincristina é um medicamento que age como inibidores mitóticos, podendo paralisar a mitose na metáfase, devido à sua ação sobre a proteína tubulina, formadora dos microtúbulos que consistem em o fuso espiralar, pelo qual migram os cromossomos, deste modo, os mesmos, durante a fase metáfase, ficam impedidos de migrar, ocorrendo a interrupção da divisão celular. A prednisona é um corticosteroide, que possui o objetivo de ser uma droga com maior potência anti-inflamatória e com menor efeito colateral. Por ser um medicamento lipofílico, cruza rapidamente a membrana celular e entram no citoplasma, onde se ligam ao receptor específico e, desta forma, atingem o núcleo celular, interagindo com o DNA e regulando ativação e supressão de diferentes genes de alguns mediadores de inflamação como a citocina, (PEREIRA, 2011).

O Retuximabe é um anticorpo monoclonal quimérico, que se liga especificamente ao antígeno transmembrana CD20, este antígeno encontra-se presente em mais de 95% de todas as células B dos LNH. Ao se ligarem, a Rituxibame e o antígeno CD20, iniciam reações imunológicas que mediarão a lise da célula B (BRASIL, 2009).

Para pacientes que têm o risco aumentado de recidiva no cérebro e na medula espinhal, podem ser tratados com quimioterapia intratecal no líquido espinhal. Uma outra opção para esses pacientes, é a administração de doses elevadas de metotrexato por via intravenosa (ACS, 2018).

Os metotrexato é um fármaco conhecido como modificador da doença, pois sua ação é retardar a produção de novas células pelo sistema imunitário, impedindo o crescimento,

multiplicação, e como consequência reduz a inflação ao mesmo tempo que suprime o crescimento do tumor. Inicialmente foi utilizado para tratar alguns tipos de câncer, (Leucemia linfócita aguda, linfossacroma, LB), depois verificou-se que era um tratamento eficaz para doenças de pele e das articulações (ABD, 2004).

#### **4- Considerações finais**

O linfoma, uma neoplasia do sistema linfático, pode ser considerada uma das doenças cancerígenas mais graves conhecidas, pois acomete o principal sistema de defesa do organismo. O linfoma de Burkitt, um tipo de linfoma não Hodgkin altamente agressivo, é responsável pela mortalidade infantil em regiões africanas e de idosos em outros países. No Brasil, o crescimento da doença pode estar relacionado com má qualidade de vida juntamente com os fatores genéticos.

O LB é dividido e classificado de acordo com as regiões do corpo em que a doença se manifesta. Sua causa principal é um fator genético, caracterizado pela translocação dos cromossomos 8 e 14, trazendo como consequência a expressão do gene C-MYC, envolvido na proliferação celular. Outras causas estão relacionadas com a infecção pelo vírus Epstein-Barr e o HIV.

Para diagnosticar o LB são utilizados exames clínicos de análise histologia das células, obtidas a partir de uma biópsia excisional do tecido suspeito, onde é possível verificar inúmeras células em fagocitose, dando a clássica característica de da doença de “céu estrelado”.

O exame de citometria de fluxo é utilizado para identificar marcadores imunológicos de forma mais rápida com pouca quantidade de amostra, na maioria das vezes somente, servem de auxílio para diagnóstico da doença. Os exames da biologia molecular como FISH e PCR, que são cruciais na detecção da translocação entre os cromossomos 8, e 14, também são utilizados de forma secundária.

Os sintomas são percebidos tardiamente caracterizados pelo aumento dos linfonodos, quando a doença já está em um estágio crítico, o que dificulta o tratamento e como consequência a sobrevida do paciente. Isto porque a dose de quimioterapia (CHOP-R) é administrada de acordo com o estadiamento dividida entre 3 a 6 ciclos, podendo ser acrescentadas sessões de radioterapia. Os exames de imagem são utilizados basicamente para monitoramento da doença e sua resposta ao tratamento.



Com base nas informações apresentadas, conclui-se que a melhor solução para a redução da mortalidade, aumento da resposta ao tratamento do paciente e de sua qualidade de vida, seria a maior utilização de exames precisos e rápidos, que deveriam ser acrescentados em procedimentos clínicos rotineiros, como a citometria de fluxo, e exames de biologia molecular, como o PCR e FISH.

## 6- Referências

- AGOSTINHO, C.S.F. **Estudo imunohistoquímico do Ki-67 em adenocarcinomas do cólon: Correlação entre a expressão do Ki-67 e a diferenciação tumoral**. Dissertação de Mestrado, 49F. Covilhã, Portugal, Universidade da Beira Interior, mai.2010.
- ACS- SOCIEDADE AMERICANA DE CÂNCER, 2018. **Treating B-cell Non- Hodgkin Lymphoma**. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/non-hodgkin-lymphoma/treating/b-cell-lymphoma.html>. Acesso em: 20 nov.2018.
- ABD- ASSOCIAÇÃO BRITÂNICA DE DERMATOLIGISTAS, 2004, atualizado em 2012-2013, revisto em 2016. **Metotrexato**. Disponível em: <http://www.bad.org.uk/shared/get-file.ashx?id=1495&itemtype=document>. Acesso em 20 nov.2018.
- ANDRADE, C.J.D.S. **Linfomas: síntese anátomo-clínica**. 100F. Dissertação de mestrado. Coimbra: Universidade de Coimbra Portugal; jun. 2009
- AFANAS N, CARVALHO M, ALMEIDA M, et.al. **Linfoma de Burkitt** . São Paulo, Acta Médica Portuguesa, v.24, p.735-738, jul.2011.
- AISENBERG, A.C. Historical review of lymphomas. **British Journal of Haematology**. Oxford, v.109, n.3, p.466-476, jun 2000.
- AMBROSIO, M.R, et al. **The alteration of lipid metabolism in Burkitt lymphoma identifies a novel marker adipophilin**. PloS one, Siena; v.7, n.8, p.44315, agos.2012
- AKA, P, KAWIRA E, et al. **Incidence and trends in Burkitt lymphoma in northern from 2000 of 2009**. Tanzania from, Pediatric blood & câncer. Estados Unidos; v.59, n.7, p.1234-1238, mai.2012
- ARAÚJO, L.H.L, et al. Linfoma Não-Hodgkin de Alto Grau-Revisão da Literatura. **Revista Brasileira de Cancerologia** Rio de Janeiro/RJ; v.54 n2, p175-183, mar 2008.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Linfoma: o que é e como tratar**- 2013 Disponível em: <http://www.saude.gov.br/linfoma>. Acesso em: 11 abr.2017.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA**. Consulta de Produtos - Medicamentos com dados atualizados após 25/03/2002. Consulta de Produtos - Medicamentos. Disponível em:

[http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/Consulta\\_Produto/consulta\\_medicamento.asp](http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/Consulta_Produto/consulta_medicamento.asp). Acesso em 11 de mai. 2009.

BIKO, D.M, et.al. **Childhood Burkitt lymphoma: abdominal and pelvic imaging findings.** American Journal of Roentgenology, Leesburg.; v.192, n.5, p.1304-1315, mai.2004.

BEIER., R, et al. **Induction of cyclin E-cdk2 kinase activity, E2F-dependent transcription and cell growth by Myc aregenetically separable events.** EMBO J, Organização Europeia de Biologia Molecular pela IRL Press, Londres; v.19, p.5813-582 nov.2000.

BLEYER, A. **Young adult oncology: the patients and their survival challenges.** CA Cancer J Clin ; v.57; p.242-55. New York, ago. 2007.

BLUM, K.A, LOZANSKI G, BYRD J.C. **Adult Burkitt leukemia and lymphoma.** Blood, Washington; v.104, n.10, p.3009-3020, nov.2004.

CHUANG, S.S, et al, Histopathology and immunohistochemistry in distinguishing Burkitt lymphoma from diffuse large B-cell lymphoma with very higt proliferatin index and with or without a starry-sky pattern: a comparative study with EBER *Am j clin pathol*, São Paulo, v.128, p558-564, mai 2017.

COSTA, R.J. Técnica de Biologia Molecular: PCR. **Reação em Cadeia da Polimerase**, Disponível em: <http://www.portaleducacao.com.br/farmacia/artigos/8577/tecnica-de-biologia-molecularpcr-reacao-em-cadeia-da-polimerase>. Acesso em: nov 2018.

FERRY, J.A. **Burkitt's lymphoma: Clinicopathologic features and differential diagnosis.** The Oncologist, Harvard Medical School, Boston. v.11, p.375-383, mar.2006.

GUEDES.R.M.C, NEVES.S.M.N. **Hibridização *in situ* fluorescente: princípio básico e perspectivas para o diagnóstico de doenças infeccosas em medicina veterinária.** Universidade Federal de Minas Gerais, Escola Veterinária, Belo Horizonte, mai,2012.

HECHT, J.L, ASTER J.C. **Molecular biology of Burkitt's lymphoma.** Journal of clinical oncology. Centro Médico da Universidade de Nebraska; Omaha. v.18, n.21, p.3707-3721, jun.2005.

INCA – Instituto Nacional do Câncer/Ministério da Saúde, **Estimativa de casos de câncer no Brasil**, Rio de Janeiro 2016-Disponível em:

<http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/tabelaestados.asp?UF=BR>. Acesso em: mai.2017.

INCA – Instituto Nacional do Câncer/Ministério da Saúde, Sistema de informação de mortalidade, **Câncer não Hodgkin**, Rio de Janeiro 2017.Disponível em [www.inca.gov.br/estimativa/2013](http://www.inca.gov.br/estimativa/2013). Acesso em: mai.2017.

INSTITUTO ONCOGUIA, **Linfoma não-Hodgkin**, Disponível em: <http://www.oncoguia.org.br/conteudo/qual-a-diferenca-entre-linfoma-nao-hodgkin-e-linfoma-de-hodgkin/5326/751/>. Acesso em: abr.2017.

JAFFE, E.S, et.al.**Pathology & Genetics Tumours of haematopoietic and lymphoid tissues**. Anais de Oncologia, Hamburgo, v.13, n.3, p.490-491, mar.2002.

JANBABAI, G, et.al. **Bilateral breast swelling in a 23-year-old woman with Burkitt lymphoma**. Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences.Mumbai. v.17, n.12, p.1188. dez. 2012.

KANBAR, H. ALI. **Linfoma de Burkitt e Linfoma de Burkitt like**. Medscape Online, Centro de Câncer de Dayton, abril. 2016. Disponível em: <http://emedicine.medscape.com/article/1447602-overview#a5>. Acesso em: 1 out. 2018

KLEIN U, DALLA-FAVERA R. **Germinal centres:role in B-cell physiology and malignancy**. Nat Rev Immunol, Londres, v.8, n.1, p.22-33, jan.2008.

LEICA, Biosystems, Novocaste Primary Antibodies, 2014. Disponível em: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/novocasta-reagents/primaryantibodies/>. Acesso em 15 de out.2018.

LEVENS D. **Disentangling the MYC**. Academia Nacional de Ciência dos Estados Unidos da América-USA, Washington; v.99, p.5757-5759, abr.2002.

LOWE, J. S.; ANDERSON, P. G. Stevens & Lowe's **Human Histology**. 4.ed. Philadelphia: Elsevier, Mosby, 2015. p.56-57, 132.

LUTZ, W. LEON J, EILERS M. **Contributions of Myc to tumorigenesis**. Biochim Biophys Acta, Marbug; v.71, p.1602-1661, mar.2002

MANNE, K. RAKESH, MADU.C. S, TALLA. H.V. **Linfoma de Burkitt esporádico no maxilar associado ao envolvimento neuro orbital em um home indiano**, J Can Dental Assoc, Índia Abril 2014. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4067790/> (acesso em junho de 2018).

MARTINS. D.M. GAGLIANI.H.L. **Importância da citometria de fluxo no diagnóstico diferencial das leucemias**. Revista UNILUS Ensino e Pesquisa. Lusiada, Santos. São Paulo. v.5 .n.8. jun.2008.

MAHDY, E. PAN Y, WANG N, Malmstrom PU, Ekman P, Bergerheim U. **Chromosome 8 numerical aberration and C-MYC copy number gain in bladder cancer are linked to stage and grade**. Hellenic Anticancer Institute, Atenas.; v.21, p.3167-3173, out.2001

MATTHEWS, G.V, Bower M, Mandalia S, et al. **Changes in acquired immunodeficiency syndrome-related lymphoma since the introduction of highly active antiretroviral**

**therapy.** Blood Nova York; v.96, n.8, p.2730-2734, out.2000

MOLYNEUX, et al. **Burkitt's lymphoma.** The Lancet, Londres., v.379, n.9822, p.1234-1244, mar.2012.

MOTER, A. GOBEL, U.B. **Fluorescence in situ hybridization (FISH) for direct visualization of microorganisms.** Journal of Microbiological Methods, v.41, p.85-112, abr.2000.

NAVARRO, W.H., KAPLAN L.D. **AIDS-Related lymphoproliferative disease.** Blood , v.107: p.13-20. mai.2006.

NEVILLE, B.W, et al. **Patologia: Oral & Maxilofacial.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004

NOGAI, H. DORKEN B, LENZ G. **Pathogenesis of non-Hodgkin's lymphoma.** J Clin Oncol. Sociedade Americana de Oncologia Clínica, Alexandria, v.10,29, n.14, p. 1803-1811, mai.2010.

OVALLE, W. K.; NAHIRNEY, P. C. Netter Bases da Histologia. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. pp. 60, 196, 198-201, 204-205.

PERKINS, A.S. FRIEDBERG J.W. Burkitt lymphoma in adults. ASH Education Program Book, v.1, p.341-348, jul.2008.

PEREIRA, G, et al. **Drug-induced Cardiac Mitochondrial Toxicity and Protection: From Doxorubicin to Carvedilol,** Current Pharmaceutical Design, São Paulo, v.17, p.2113-2129, mar.2011.

QUEIROGA, **Linfoma De Burkitt: Característica Clinicopatológicas, Imunoistoquímicas e Associação com o Vírus Epstein-Barr(EBV) em Populações Adulta e Pediátrica Em Diferentes Regiões Geográficas No Brasil.** 2008 155f. Dissertação de Doutorado. Faculdade De Medicina Da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

SEER- Surveillance Epidemiology end Results, **Estudo de Vigilância Epidemiológica Americana** 1992-2001. Disponível em <http://seer.cancer.gov>. Acesso em 11 abr.2017.

SIMETTE, R.L. et.al. Artigo relato de caso: Linfoma de Burkitt. **REVISTA BRASIL**, Cabeça Pescoço, Curitiba/PR v. 36, nº 1, p. 53 - 55, jan. mar, 2007.

RAJ, S.; et al. Anthracycline-Induced Cardiotoxicity: **A Review of Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment,** Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine, v.16, p.315, set.2014.

REECE, J. B,et.al. **Forensic evidence and genetic profiles.**10º edição, pg. 430-431. San Francisco, CA: Pearson, 2011.

ROCHER, Linfoma não Hodgkin 2008- Disponível em [http://www.rocher.pt/sites-tematicos/linfomas/index.cfm/o\\_que\\_e/linfoma-nao-hodgkin/](http://www.rocher.pt/sites-tematicos/linfomas/index.cfm/o_que_e/linfoma-nao-hodgkin/) .Acesso em: mai.2017.

ROTHER, E.T, **Revisão sistemática x revisão narrativa**, Acta Paulista de Enfermagem, São Paulo, vol 20, n 2, jun 2007.

SANTOS, I. G, et.al, .Rev. Cir. Traumatol. Buco-Maxilo-Fac. **Aspecto clínico e tomográficos do linfoma de Burkitt em pacientes pediátricos-relato de caso**. Camaragibe v.15, n.2, p. 21-26, abr./jun. 2015

SMITH, S.M. **AIDS-related BL and CD4 count: a clue?** Sociedade Americana de Hematologia. Chicago, v.116, n.25, p.5435-6, dez.2010.

SAID, J.W. **Aggressive B-cell lymphomas: how many categories do we need?** Modern Pathology. Nova York; v.26, p.42-56, jan.2013

STEVENSON MS, BRAYLAN RC. **Flow Cytometric analysis of lymphomas and lymphoproliferative disorders**. Seminars in Hematol; Filadelfia v.38, p.111-123, out. 2001

SAN MIGUEL, J.F, SÁNCHEZ-GUIJO F.M. **Hematología: Manual básico razonado**. 3 ed: Barcelona: Elsevier Espanha, S.L.; abr.2009.

SHAFFER, A.L. ROSENWALD A, STAUDT LM. **Lymphoid malignancies: the dark side of B-cell differentiation**.Natureza Rev Immunol, Londres, v.2, n.12, p.920-932, dez.2002.